

## 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者氏名 飯 田 貴 弥

### 論 文 題 目

Rapamycin improves mortality following intestinal ischemia-reperfusion via the inhibition of remote lung inflammation in mice

### 論文内容の要旨

小腸虚血再灌流傷害は上腸間膜動脈閉塞症、外科手術、外傷、熱傷等においてみられる病態であり、粘膜上皮細胞障害、バリア機能の破綻、炎症性サイトカイン産生、好中球の動員などに伴う小腸粘膜傷害だけではなく、bacterial translocation やこれに引き続く全身性炎症反応症候群や多臓器不全等が重要であり、このために致死的になることが知られている。しかしながら、小腸虚血再灌流傷害に対する治療は十分とは言えないのが現状であり、新規治療戦略の確立が重要な課題となっている。

Mammalian target of rapamycin (mTOR) は、セリンスレオニンキナーゼであり、細胞の増殖や生存に関わっていることが明らかとなっており、癌、糖尿病、移植領域における様々な病態において治療標的となる可能性が示されている。抗真菌薬として開発された mTOR 阻害剤 rapamycin は、免疫抑制剤としても臨床応用されているが、rapamycin が脳、心、腎臓における虚血再灌流傷害モデルにおいて臓器保護的に働くことが報告されており、虚血再灌流傷害に対する治療分子として検討されている。しかしながら、小腸虚血再灌流傷害における rapamycin の有効性については一定の見解が得られていない。そこで、今回我々は、マウス小腸虚血再灌流傷害、さらにはそれに伴う遠隔臓器障害、特に肺障害における rapamycin の有効性について検討を行った。

7 週齢雄性 C57BL/6 マウスを用いて上腸間膜動脈を 60 分間結紮し、その後、再灌流することにより小腸虚血再灌流傷害モデルを作成した。Rapamycin 投与群では上腸間膜動脈の結紮 1 時間前に rapamycin (5 mg/kg) を腹腔内投与した。再灌流 72 時間後までの生存率、再灌流 6 時間後における小腸病理組織像、腸管洗浄液中の蛋白濃度 (漏出蛋白)、小腸粘膜内の炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ )産生、炎症細胞浸潤の指標として小腸粘膜内ミエロペルオキシダーゼ (Myeloperoxidase : MPO) 活性について検討を行った。遠隔臓器障害の評価として肺障害に着目し、再灌流 12 時間後における血中エンドトキシン濃度、肺病理組織像、肺胞洗浄液における炎症細胞数、肺組織の MPO 活性・炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ )産生、Electrophoresis Mobility Shift Assay (EMSA)による NF- $\kappa$ B 活性化、肺組織培養による細菌増殖能の検討を行った。また、肺胞マクロファージを単離し、蛍光標識した zymosan を用いて貪食能の評価を行った。

rapamycin 投与群では非投与群と比較して、小腸虚血再灌流傷害後の生存率が有意に改

善した。しかしながら、rapamycin 投与群、非投与群における小腸虚血再灌流傷害の小腸病理組織像には明らかな差異は認められず、腸管内漏出蛋白、炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ )産生および MPO 活性についても、rapamycin 投与による明らかな改善効果は認められなかった。

遠隔臓器障害についての検討では、小腸バリア機構破綻に伴う bacterial translocation の評価として血中エンドトキシン濃度を測定したが、rapamycin 投与群、非投与群における明らかな差は認められなかった。しかしながら、小腸虚血再灌流後の肺組織において、rapamycin 投与群において組織像における炎症所見の改善、肺胞洗浄液における浸潤炎症細胞数の減少、MPO 活性や TNF- $\alpha$ 産生の低下が認められ、rapamycin 投与により小腸虚血再灌流傷害に伴う肺障害が抑制されることが明らかとなった。また、小腸虚血再灌流傷害後の肺組織における NF- $\kappa$ B 活性化は rapamycin 投与群において明らかな低下を認めた。肺組織の培養では、rapamycin 投与群において細菌コロニー数は有意に減少しており、rapamycin による細菌増殖の抑制効果が示された。肺胞マクロファージにおける貪食能を検討したところ、rapamycin 投与群においてマクロファージによる zymosan の取り込みが有意に増加しており、rapamycin による貪食能の亢進が示された。

これらのことから、mTOR 阻害剤 rapamycin は、小腸虚血再灌流傷害後の生存率を有意に改善し、この機序には、rapamycin による小腸局所における臓器保護作用ではなく、遠隔臓器である肺障害の抑制効果が関与していることが示唆された。